

# Zaburzenia genetyczne w ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci i ich wykorzystanie w praktyce klinicznej

## Genetic aberrations in pediatric acute lymphoblastic leukemia and their implications in clinical practice

Katarzyna Derwich, Olga Zając-Spychała

Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatrycznej,  
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, Poznań

### Streszczenie

*Ostra białaczka limfoblastyczna (ALL) jest najczęstszym nowotworem układu krwiotwórczego wieku dziecięcego oraz heterogenną chorobą charakteryzującą się nadmierną proliferacją i zahamowaniem różnicowania. U podstaw ALL leżą zaburzenia genetyczne o charakterze różnego rodzaju mutacji i rearanżacji w obrębie kluczowych sygnałów przekazywania komórkowego, genów warunkujących prawidłowy przebieg hematopoezy, onkogenów, genów supresorowych i regulatorów apoptozy. Zastosowanie nowych technologii molekularnych i metod badawczych pozwala na coraz dokładniejsze poznanie biologicznego podłoża leukemogenezy, poszukiwanie nowych markerów o znaczeniu diagnostycznym i prognostycznym, o wartości przydatnej w reklasyfikacji pacjentów do grup ryzyka, a także na odkrywanie nowych cząstek docelowych dla zindywidualizowanych terapii. W prezentowanej pracy przedstawiono obecny poziom wiedzy na temat zaburzeń genetycznych występujących w dziecięcej ALL.*

**Słowa kluczowe:** ostra białaczka limfoblastyczna, zaburzenia genetyczne, dzieci

*Hematologia 2012; 3, 3: 221–230*

### Abstract

*Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common malignancy of childhood and a heterogeneous disorder characterized by excessive proliferation and differentiation block. The basis of this process is formed by genetic aberrations: a large spectrum of mutations and rearrangements affect essential cellular transduction pathways, genes assuring proper course of the hematopoiesis, oncogenes, tumor suppressors and apoptosis regulators. Application of novel molecular technologies and research methods allow to understanding the biology of leukemogenesis, identified new diagnostic and prognostic markers based on gene expression and used to stratify patients and to individualize therapy and improve the determination of risk factors in each age group. This review presents the current status of knowledge on genetic aberrations in both pediatric B-cell precursor and T-cell ALL.*

**Key words:** acute lymphoblastic leukemia, genetic aberrations, children

*Hematologia 2012; 3, 3: 221–230*

**Adres do korespondencji:** Katarzyna Derwich, Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatrycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, ul. Szpitalna 27/33, 60–572 Poznań, tel./faks: 61 84 74 356, email: kderwich@poczta.onet.pl

## Wprowadzenie

Ostra białaczka limfoblastyczna (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) jest najczęściej występującą chorobą nowotworową układu krwiotwórczego u dzieci i stanowi 80–85% wszystkich białaczek w tej grupie wiekowej. Liczba nowych zachorowań w populacji dzieci polskich wynosi 220–250 rocznie. Ostra białaczka limfoblastyczna stanowi heterogenną grupę chorób nowotworowych i cechuje się występowaniem niedojrzałych komórek limfoidalnych w szpiku kostnym, krwi oraz tworzących nacieki w różnych organach [1, 2]. Charakteryzuje się nieprawidłowościami w przebiegu procesów proliferacji, różnicowania i dojrzewania komórek wywodzących się z multipotencjalnej komórki hematopoetycznej szpiku. U podstaw tego zjawiska leżą zmiany w genomie komórek, a w szczególności w genach zaangażowanych w fizjologiczną hematopoezę. Nieprawidłowe komórki, które uległy transformacji, cechują zwiększona proliferacja oraz oporność na apoptozę, dlatego skutecznie zasiedlają szpik kostny i krew obwodową, stopniowo prowadząc do wyparcia prawidłowych linii krwiotworzenia [3]. Zjawisko to nosi nazwę klonalnego rozrostu nowotworowego o najwyższej zdolności do ekspansji, niepodlegającego mechanizmom regulacyjnym organizmu i uzyskującego przewagę nad innymi komórkami.

## Patogeneza ALL

Dokładna patogeneza mechanizmów prowadzących do rozwoju ostrych białaczek pozostaje nieustalona. Jedynie kilka procent przypadków jest związanych ze współistnieniem wrodzonych, predysponujących zespołów genetycznych, takich jak: zespół Downa, zespół Klinefeltera, zespół Blooma, ataksja–teleangiektazja i zespół Nijmegen. Dobrze poznano natomiast wpływ takich czynników, jak: ekspozycja na promieniowanie jonizujące, środki chemiczne, leki alkilujące i pochodne podofilotoksyny, a także infekcje wirusowe i bakteryjne. Identyfikacja innych czynników środowiskowych związanych z ryzykiem rozwoju białaczki jest trudna ze względu na brak możliwości potwierdzenia oznaczenia ilościowego ekspozycji i brak możliwości przeprowadzenia badań prospektywnych.

Naczelną rolę w patogenezie ALL przypisuje się jednak zdarzeniom zachodzącym w obszarze genomu komórek białaczkowych. Uważa się, że rozwój ALL wiąże się ze zmianami w ważnych genach krwiotwórczych komórek progenitorowych, w tym związanych z różnicowaniem w kierunku

komórek linii T i B oraz z mutacjami powodującymi niekontrolowaną proliferację i prowadzącymi do zaburzeń różnicowania komórek [3]. W niektórych przypadkach pierwsza mutacja może powstać w krwiotwórczej komórce macierzystej mającej zdolność różnicowania w kierunku wszystkich linii komórkowych. W komórkach białaczkowych występują także klonalne rearanżacje immunoglobulin i genów receptorowych, co prowadzi do tworzenia glikoprotein powierzchniowych odpowiadających tym, które występują na niedojrzałych komórkach progenitorowych linii B i T.

Dzięki nowym metodom diagnostycznym coraz więcej wiadomo o nowo wykrytych zmianach wskazujących na szlaki przekazywania komórkowego zaangażowanego w patologiczny rozrost, stopień różnicowania komórek i ich proliferacji oraz zmiany o charakterze onkogennym. Ostatnie lata badań nad genomem limfoblastów białaczkowych technikami wysokiej rozdzielczości znacznie umożliwiły poszerzenie wiedzy dotyczącej genetycznej heterogenności dziecięcej ALL oraz złożonej biologii tego nowotworu w kontekście współistnienia zaburzeń funkcji wielu genów. Pozwala to nie tylko coraz lepiej rozumieć proces leukemogenezy, ale przede wszystkim niesie ze sobą implikacje diagnostyczne, prognostyczne i terapeutyczne dotyczące tej grupy chorych.

Analiza procesu leukemogenezy zakłada udział dwóch grup genów — odpowiedzialnych za regulację proliferacji (mutacje klasy I) oraz uczestniczących w procesie różnicowania i apoptozy komórek (mutacje klasy II). Z tego założenia wynika zastosowanie „hipotezy dwóch zdarzeń” w patogenezie białaczki [1]. Model transformacji nowotworowej w ALL obejmuje dwie następujące po sobie mutacje, wspólnie inicjujące i promujące leukemogenezę. Nie dotyczy to jednak przypadków ALL z rearanżacją genu *MLL* (*mixed lineage leukemia*) do wielu odmiennych *loci*, ponieważ anomalie te są zmianami onkogennymi, a proces nowotworzenia zależy od zmian epigenetycznych [4]. Dodatkowo nieprawidłowości genetyczne mogą powstać na kilku poziomach i obejmują mutacje punktowe, amplifikacje czy delecje oraz zaburzenia cytogenetyczne. Do zmian dotyczących kariotypu zalicza się aberracje strukturalne, spowodowane przeważnie przez dwuniciowe pęknięcia DNA, wskutek błędnych procesów naprawy, prowadzące do chromosomowych translokacji, delecji, duplikacji, inwersji oraz aberracje liczbowe — zmiany ploidii i aneuploidie, takie jak hiperdiploidia i hipodiploidia [5–7]. Najczęściej dotyczą one onkogenów, supresorów nowotworowych, regulatorów apoptozy, genów regulujących

rozwój limfoidalny oraz genów kodujących kluczowe drogi przekaźnictwa komórkowego. Mają charakter klonalny; mogą dotyczyć pluripotencjalnej komórki hematopoetycznej szpiku lub progenitorów o wyższym stopniu zróżnicowania. W procesach leukemogenezy znaczenie mogą mieć także czynniki regulacji epigenetycznej, takie jak elementy modyfikujące chromatynę czy miRNA [8]. Pierwotnymi zmianami genetycznymi są zwykle translokacje chromosomowe.

Analiza genomu limfoblastów ALL pozwoliła wyodrębnić zaburzenia chromosomalne, które są kluczowe w powstawaniu białaczki z poszczególnych linii limfoidalnych oraz mutacji wtórnych uczestniczących w progresji rozwoju klonalnego [3]. Swoiste translokacje chromosomowe charakteryzują poszczególne podtypy ALL i zwykle prowadzą do aktywacji genów, które w nich uczestniczą [9–11].

### Klasyfikacja ALL

Ze względu na dużą różnorodność biologiczną ostrych białaczek zachodzi potrzeba ich klasyfikacji na podstawie standaryzowanych kryteriów diagnostycznych, znajdujących zastosowanie w praktyce klinicznej. Obecnie w ALL możliwe jest przeprowadzenie kilku rodzajów klasyfikacji. Głównie z nich to: klasyfikacja morfologiczna FAB (*French–American–British*), klasyfikacja immunologiczna, klasyfikacja cytogenetyczna oraz klasyfikacja molekularna.

Najstarszy i zarazem powszechnie używany od lat w praktyce podział FAB wprowadzono w 1976 roku i oparto na cytologicznej ocenie limfoblastów [12]. Wyróżnia się trzy podgrupy ALL — L1, L2, L3, dokonane na podstawie oceny takich cech, jak: wielkość komórki, postać chromatyny jądrowej,

kształt jądra, jąderko, ilość i bazofilia cytoplazmy. W świetle wykrytych w ostatnich latach wielu zaburzeń genetycznych, pozostających w ścisłym związku z wieloma aspektami choroby, podział FAB uległ dewaluacji i okazał się niewystarczający [13].

Podstawą obecnej klasyfikacji ALL u dzieci jest badanie cytometrii przepływowej. Na podstawie charakterystyki immunofenotypowej wyróżnia się ALL z prekursorów limfocyta B (*BCP-ALL, B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia*) oraz ALL z linii komórek T (*T-cell acute lymphoblastic leukemia*) (tab. 1) [14].

Ostrą białaczkę limfoblastyczną charakteryzują liczne zaburzenia genetyczne, które definiują jej poszczególne podtypy, różniące się od siebie pod względem cytomorfologii, immunofenotypu oraz aberracji chromosomowych i genowych, a także odpowiedzi na terapię oraz ryzyka nawrotu [15–17].

Celem przedstawionych wyżej klasyfikacji ALL u dzieci jest usystematyzowanie i uszeregowanie podtypów ALL, głównie ze względu na znaczenie kliniczne. Klasyfikacja ta jest podstawą przydzielania pacjentów do grup o określonej charakterystyce i ryzyku, dla których należy dobrać odpowiednio zintensyfikowane leczenie. Pozwalają ponadto wydzielić spośród rozległej grupy zaburzeń odrębne podtypy o wspólnych właściwościach, aby możliwe stało się dokonywanie porównawczych analiz wyników i wzajemna wymiana doświadczeń między różnymi grupami badawczymi [18].

W blisko 80% przypadków ALL u dzieci w komórkach białaczkowych stwierdza się aberracje chromosomowe, które w połowie przypadków mają charakter aberracji liczbowych i strukturalnych. Poniżej przedstawiono najczęściej występujące zaburzenia genetyczne w dziecięcej ALL.

**Tabela 1.** Immunologiczna klasyfikacja dziecięcej ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) (źródło: [14])

**Table 1.** Immunological classification of childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) (source: [14])

Typ białaczki	Ekspresja antygenowa
Pro-B ALL (B-I)	CD10 <sup>-</sup> , cylg $\mu$ <sup>-</sup> , slg i/lub cylg $\kappa$ <sup>-</sup> lub cylg $\lambda$ <sup>-</sup>
Common-B ALL (B-II)	CD10 <sup>+</sup> , cylg $\mu$ <sup>-</sup> , slg i/lub cylg $\kappa$ <sup>-</sup> lub cylg $\lambda$ <sup>-</sup>
Pre-B ALL (B-III)	CD10 <sup>+</sup> , cylg $\mu$ <sup>+</sup> , slg i/lub cylg $\kappa$ <sup>-</sup> lub cylg $\lambda$ <sup>-</sup>
Pro-T ALL (T-I)	CD7 <sup>+</sup> , CD2 <sup>-</sup> , CD5 <sup>-</sup> , CD8 <sup>-</sup> , CD1a <sup>-</sup> , TCR $\alpha\beta$ <sup>-</sup> , TCR $\gamma\delta$ <sup>-</sup>
Pre-T ALL (T-II)	CD7 <sup>+</sup> , CD2 <sup>+</sup> , CD5 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> , CD1a <sup>-</sup> , TCR $\alpha\beta$ <sup>-</sup> , TCR $\gamma\delta$ <sup>-</sup>
Cortical-T ALL (T-III)	CD7 <sup>+</sup> , CD2 <sup>+</sup> , CD5 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> , CD1a <sup>+</sup> , TCR $\alpha\beta$ <sup>-</sup> , TCR $\gamma\delta$ <sup>-</sup>
$\alpha\beta$ +mature-T ALL (T-IVa)	CD7 <sup>+</sup> , CD2 <sup>+</sup> , CD5 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> , CD1a <sup>-</sup> , TCR $\alpha\beta$ <sup>+</sup> , TCR $\gamma\delta$ <sup>-</sup>
$\gamma\delta$ +mature-T ALL (T-IVb)	CD7 <sup>+</sup> , CD2 <sup>+</sup> , CD5 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> , CD1a <sup>-</sup> , TCR $\alpha\beta$ <sup>-</sup> , TCR $\gamma\delta$ <sup>+</sup>

cyg — cytoplazmatyczna immunoglobulina; slg — powierzchniowa immunoglobulina;  $\mu$  — białko łańcucha ciężkiego;  $\kappa$  — białko łańcucha lekkiego kappa immunoglobuliny;  $\lambda$  — białko łańcucha lekkiego lambda immunoglobuliny; TCR $\alpha\beta$  — receptor limfocytów T  $\alpha\beta$ ; TCR $\gamma\delta$  — receptor limfocytów T  $\gamma\delta$

## ALL z prekursorów limfocytu B

Spośród wszystkich ALL najczęściej (ok. 85% przypadków) u dzieci występuje BCP-ALL. Zaburzenia genetyczne dotyczą ponad 75% przypadków dziecięcej BCP-ALL i występują w postaci aneuploidii (wysokiej hiperdiploidii i hipodiploidii) oraz rearanżacji chromosomalnych, które dysregulują procesy różnicowania i dojrzewania linii limfoidalnej [19]. Najczęstszymi zaburzeniami chromosomowymi charakterystycznymi dla tego podtypu białaczki są: występujące aż w 20–25% przypadków t(12;21)(p13;q22), reprezentująca fuzję *ETV6-RUNX1* (*TEL-AML1*) oraz wysoka hiperdiploidia, charakteryzująca się obecnością dodatkowych chromosomów (51–60 chromosomów) (tab. 2) [20]. W blisko 20% białaczek hiperdiploidalnych, najczęściej z trisomią chromosomów 4, 10 i 14, zidentyfikowano mutacje genu receptora kinazy tyrozynowej *FLT3*, a także mutacje w genach *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11* [6, 10, 21]. Do rzadko występujących aberracji należą t(9;22)(q34;q11.1) z fuzją *BCR-ABL1* kodującego aktywną kinazę, której częstość występowania zwiększa się z wiekiem chorego, oraz rearanżacje *MLL* ze szczególnym naciskiem na t(4;11)(q21;q23) *MLL-AF4* [22]. Rearranżacje genu *MLL* zdecydowanie częściej występują w niemowlęcej

ALL [10]. Obie translokacje są związane z gorszym rokowaniem i zgodnie z obowiązującym protokołem leczenia dziecięcej BCP-ALL obecność jednej z tych translokacji kwalifikuje pacjenta do grupy wysokiego ryzyka. Dla tych chorych często jedynym skutecznym rozwiązaniem terapeutycznym, poza zintensyfikowaniem chemioterapii, pozostaje allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT, *allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*) [23].

Do aberracji liczbowych, będących czynnikiem złej prognozy i kwalifikującym pacjenta do grupy wysokiego ryzyka, należą bliska haploidia (24–29 chromosomów) i niska hipodiploidia (31–39 chromosomów), wykrywana w mniej niż 1% przypadków dziecięcej ALL [24].

Kolejną nieprawidłowość — wewnątrzchromosomową amplifikację chromosomu 21 (iAMP21) — zidentyfikowano w trakcie sprawdzania próbki na obecność fuzji *ETV6-RUNX1*, w której dodatkowo wykryto obecność innych rozległych rearanżacji genomowych [25]. Pierwotnie opisywana jako niekorzystna prognostycznie, obecnie anomalia ta traci na znaczeniu rokowniczym w przypadku bardziej zintensyfikowanej chemioterapii [26]. Podobną zależność od intensyfikacji leczenia udokumentowano w przypadku t(1;19)(*TCF3-PBX1*), w którym

**Tabela 2.** Zaburzenia genetyczne w dziecięcej ostrej białaczce limfoblastycznej z prekursorów limfocytu B (BCP-ALL) (źródło [20])

**Table 2.** Genetic aberrations in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL) (source [20])

Zaburzenie genetyczne	Częstość występowania	Wartość prognostyczna
t(9;22)(q34;q11.1) <i>BCR-ABL1</i>	3–5%	Niekorzystne rokowanie EFS < 30%
Rearranżacje genu <i>MLL</i>	5–8% (ok. 70% niemowląt; ok. 2% dzieci > 1. rż.)	Niekorzystne rokowanie w niemowlęcej ALL, t(4;11)(q21;q23) — niekorzystne rokowanie we wszystkich grupach wiekowych
iAMP21 (wewnątrzchromosomalna amplifikacja chromosomu 21)	2–3%	Niekorzystne rokowanie w przypadku standardowej terapii
Delecje, mutacje aktywujące gen <i>IKZF1</i>	10%	Wysokie ryzyko wznowy
Rearranżacje genu <i>CRLF2</i> (translokacje <i>CRLF2-IGHα</i> , <i>CRLF2-P2RY8</i> )	7%	Wysokie ryzyko wznowy
Mutacje aktywujące w genach dla kinaz <i>JAK1</i> , <i>JAK2</i> , <i>JAK3</i>	1% (10% w HR)	Niekorzystne rokowanie przy współistnieniu rearanżacji <i>CRLF2</i> lub mutacji <i>IKZF1</i>
Hipodiploidia (≤ 44 chromosomów)	1%	Niekorzystne rokowanie
Hiperdiploidia (≥ 51–60 chromosomów)	20–30%	Korzystne rokowanie, zwłaszcza przy trisomii chromosomów 4, 10, 14
t(12;21)(p13;q22) <i>ETV6-RUNX1</i>	20–25%	Korzystne rokowanie
t(1;19)(q23;p13.3) <i>TCF3-PBX1</i>	5–8%	Korzystne rokowanie przy zintensyfikowanym leczeniu
Translokacje <i>IGHα</i> i genów rodziny <i>CEBP</i>	2–3%	Nieznana wartość prognostyczna

EFS (event free survival) — przeżycie wolne od nawrotów choroby



dzięki odpowiednio dobranym protokołom terapeutycznym uzyskuje się 5-letnie przeżycie wolne od nawrotów choroby (EFS, *event free survival*) bliskie 84%. Z kolei pacjenci z tą translokacją są obciążeni podwyższonym ryzykiem izolowanej wznowy w ośrodkowym układzie nerwowym [27]. Rzadko spotykaną (zaledwie 0,5–0,7%) w dziecięcej BCP-ALL jest translokacja t(8;14)(q11;q32), która wydaje się mieć korzystne znaczenie prognostyczne. Występuje częściej u chłopców (< 10. rz.), częściej u pacjentów z zespołem Downa, niską liczbą leukocytów w chwili diagnozy i obecnością antygenu CD10 [28].

Dzięki całościowej analizie genomu komórek blastycznych metodą mikromacierzy polimorfizmów pojedynczego nukleotydu uzyskano dokładniejszy wgląd w anomalie submikroskopowe, kluczowe w transformacji i proliferacji BCP-ALL. Stwierdzono wysoką częstość występowania mutacji w genach regulujących normalny limfoidalny rozwój, do których zalicza się następujące czynniki transkrypcyjne: *PAX5*, *TCF3*, *EBF1*, *LEF1*, rodzinę czynników transkrypcyjnych *IKAROS* (*IKZF1*, *IKZF2*, *IKZF3*), gen receptora komórek pre-B (*VPREB1*), geny aktywujące rekombinazę *RAG1/2*, *linker* B-komórkowy (*BLNK*), które ulegają mutacjom punktowym, delecjom, amplifikacjom, strukturalnym rearanżacjom, często na poziomie submikroskopowym [5, 9]. Wśród tych genów zmianom najczęściej ulega, ważny dla rozwoju i dojrzewania limfocytów B, czynnik transkrypcyjny *PAX5* [5, 10, 21]. Czynnik transkrypcyjny *TCF3* występuje w dwóch translokacjach, w tym t(1;19)(q23;p13.3) *TCF3-PBX1* oraz nieco rzadszym wariantcie t(17;19)(q22;p13) *HLF-TCF3*. Przypadkom z delecjami wyżej wymienionych genów, regulujących normalny limfoidalny rozwój, przypisuje się nazwę białaczki BCR-ABL1-podobnej, ze względu na zbieżności w profilu ekspresji genów z klasyczną translokacją t(9;22), mimo braku jej obecności. Cechami wyróżniającymi ten typ BCP-ALL są aktywujące mutacje szlaku JAK-STAT połączone z nadekspresją *CRLF2*, czyli genów uczestniczących w transdukcji sygnału z receptorów cytokin [29]. Nadekspresja *CRLF2*, powstanie nowego transkryptu fuzyjnego *CRLF2-P2RY8* oraz, rzadziej, mutacje punktowe *CRLF2* występują w 7% przypadków dziecięcej BCP-ALL [22, 30]. Z kolei zaburzenia funkcji *CRLF2* stwierdzono u aż 50% chorych z zespołem Downa. Ponadto niemal wszystkie przypadki BCP-ALL z zaburzeniami w obrębie genów *JAK* wykazują anomalie w obrębie struktury genu *CRLF2*, co świadczy o kooperowaniu tych zaburzeń w procesie leukemogenezy [30, 31]. Występowanie w białaczce mutacji jednocześnie

kilku spośród wymienionych czynników regulatorowych dla różnicowania linii limfoidalnej powoduje nasilenie niekorzystnego efektu rokowniczego, co może mieć znaczenie dla odpowiedzi na stosowane leczenie [32].

Na szczególną uwagę zasługuje wspomniany już gen *IKZF1*, kodujący czynnik transkrypcyjny *IKAROS*, w obrębie którego delecje i mutacje punktowe zidentyfikowano w blisko 80% przypadków dziecięcej ALL *BCR-ABL1*-pozytywnych i w około 30% BCP-ALL u dzieci z grupy wysokiego ryzyka [29, 30, 33]. W przeprowadzonych licznych badaniach stwierdzono większe ryzyko wznowy i pierwotną oporność na leczenie wśród dzieci z mutacjami *IKZF1* [34]. Potwierdza to hipotezę, że mutacje genu *IKZF1*, poprzez zahamowanie różnicowania linii limfoidalnej, czynią komórki bardziej opornymi na chemioterapię, co pośrednio potwierdza obecność tych mutacji w momencie wznowy białaczki [31]. Mutacjom genu *IKZF1* bardzo często towarzyszą rearanżacje *CRLF2* i mutacje aktywujące kinazy z rodziny Janus — *JAK*, co ma szczególnie niekorzystne znaczenie rokownicze potwierdzone w wielu badaniach [32]. Zakłócenia mogą również dotyczyć genów *CDKN2A*, *CDKN2B*, które kontrolują cykl komórkowy, a także genów supresorowych *RBI*, genów uczestniczących w limfoidalnej transdukcji sygnału wewnątrzkomórkowego (*CD200*, *BTLA* i *BLNK*) oraz genów zaangażowanych w odpowiedź na cytostatyki, których charakter prognostyczny jest nieustalony lub nieistotny [35].

## T-komórkowa ALL

Podtyp T-ALL, czyli ostra *białaczka* limfoblastyczna T-komórkowa (*T-ALL*, *T-lineage ALL*), występuje z mniejszą częstotliwością (12–15% przypadków) niż BCP-ALL i ma zdecydowanie gorsze rokowanie [35]. Najbardziej charakterystyczne chromosomowe rearanżacje strukturalne dla T-ALL, które powodują aktywację onkogenów, zachodzą najczęściej przez translokację w *loci* receptora T-komórkowego (TCR, *T-cell receptor*), a rokowniczy wynik tej aberracji jest determinowany rodzajem przeniesionego onkogenu (tab. 3) [21, 36–38]. Dlatego w nowej klasyfikacji T-ALL uwzględniono nie tylko immunofenotyp komórek nowotworowych, ale także strukturalne i dodatkowo funkcjonalne zmiany w ich genomie. W przypadku braku translokacji rokowanie może być definiowane na podstawie profilu ekspresji genów. Regionami podatnymi na translokacje są 14q11 w *locus* *TCRA/D* i 7q34 w *locus* *TCRB*. Receptor *NOTCH1* sprawuje kontrolę nad samoodnową krwiotwórczych komór-

**Tabela 3.** Zaburzenia genetyczne w dziecięcej ostrej białaczce limfoblastycznej T-komórkowej (źródło [20])  
**Table 3.** Genetic aberrations of childhood T-lineage acute lymphoblastic leukemia (source [20])

Zaburzenie genetyczne	Częstość występowania	Wartość prognostyczna
Translokacje onkogenów ( <i>TLX1</i> , <i>TLX3</i> , <i>LMO1</i> , <i>LMO2</i> , <i>HOXA</i> ) do locus genu <i>TCR</i> : t(11;14)(p15;q11), t(11;14)(p13;q11), t(1;14)(p34;q11), t(10;14)(q24;q11), t(7;10)(q35;q24), inv(7)(p15;q34)	40–50%	Korzystne rokowanie dla t(10;14)(q24;q11) z nadekspresją <i>TLX1</i> ; niekorzystne rokowanie dla t(5;14)(q35;q32) z nadekspresją <i>TLX3</i>
Del(1)(p32) z fuzją <i>SIL-TAL1</i>	10–30%	Bez wartości rokowniczej
t(5;14)(q35;q32) z fuzją <i>TLX3-BCL11B</i>	20%	Bez wartości rokowniczej
t(10;11)(p12;q14) z fuzją <i>PICALM-MLLT10</i>	10%	Niekorzystne rokowanie
Rearanżacje genu <i>MLL</i> , np. <i>MLL-ENL-AF10</i>	5–10%	Bez wartości rokowniczej
<i>NUP214-ABL1</i> amplifikacja episomalna locus 9p34	5–6%	Bez wartości rokowniczej
Mutacje aktywujące <i>NOTCH1</i>	40–50%	Korzystna w zależności od rodzaju chemioterapii
Delekcje <i>CDKN2A</i> (9p21)	60–70%	Bez wartości prognostycznej

rek macierzystych i rozwojem komórek T. Mutacje genu receptora *NOTCH1* mają wielopłaszczyznowy wpływ na zjawiska zachodzące w komórce, dotykają co najmniej pięciu znanych szlaków, których składowe to: *TAL1*, *LYL1*, *LMO1*, *LMO2*, *TLX1*, *TLX3*, *MYC* [39]. Skutkiem mutacji jest zwiększenie ekspresji onkogenów *MYC* i zmniejszenie ekspresji genów supresorowych *p16/INK4A* i *p14/ARF (CDKN2A)*, *TP53* i *RB*. Mutacje aktywujące w genie *NOTCH1*, obserwowane we wszystkich podtypach dziecięcej T-ALL, należą do najczęstszych zaburzeń genetycznych o niepotwierdzonej jednoznacznie pozytywnej wartości prognostycznej [40]. Zidentyfikowano rzadką translokację t(7;9)(q43;q34.3), w której partnerem aktywowanego *NOTCH1* jest *TCRB*.

Kolejną grupą genów uczestniczących w leukemogenezie, ulegających rearanżacjom, są geny *homeobox* klas I (*HOXA-D*) i II (*TLX1*, *TLX3*). Udowodniono ich udział w prawidłowej hematopoezie, w charakterze regulatorów utrzymywania komórek macierzystych i determinacji linii. Geny *homeobox* klasy II kodują kofaktory dla białek HOX i również mogą się stać celem aberracji. Do nadmiernej aktywacji HOX prowadzą powtarzające się w T-ALL translokacje *PICALM-MLLT10* i *MLL*. W obrębie regionu 11q23 genu *MLL*, który pełni funkcję regulatora transkrypcji, utrzymującego stały profil ekspresji, dochodzi do częstych rearanżacji i tworzenia genów fuzyjnych. Oprócz znanej translokacji t(11;19), w której partnerem *MLL* jest *MLLT1*,

do fuzji może dochodzić także z genami *MLLT10*, *MLLT4*, *AFF1*, *FOXO4*. U blisko 10% chorych z T-ALL występuje niekorzystna rokowniczo translokacja t(10;11)(p12;q14) powodująca fuzję *PICALM-MLLT10* [41]. Często występują delekcje *CDKN2A*, które stanowią alternatywną drogę blokowania inhibitora kinazy w stosunku do *PICALM-MLLT10*. Jedną z nowo zidentyfikowanych w T-ALL aberracji jest episomalna amplifikacja locus 9p34, prowadząca do powstania genu fuzyjnego *NUP213-ABL1* o aktywności kinazy tyrozynowej. Rearanżacja ta dotyczy chorych z nadekspresją czynników transkrypcyjnych HOX11 i HOX11L2 i może stanowić potencjalny punkt uchwytu dla leków [42].

Badania u znacznej części pacjentów nie ujawniają zaburzeń na poziomie kariotypu [36, 38]. Szczegółowe analizy wykazują obecność w tych przypadkach kryptycznych nieprawidłowości, takich jak mikrodelekcje prowadzące do utraty genów supresorowych, na przykład w locus 9p21, aktywacji onkogenów przy braku zaburzeń chromosomowych w odpowiadającym locus, lub translokacje chromosomowe dotyczące złamań w obrębie *INK4/ARF* i końcowych fragmentów chromosomów, na przykład t(5;14)(q35;q32). Jeśli nawet wspomniane wyżej aberracje chromosomowe nie zostaną wykryte, to obserwuje się nadekspresję genów, takich jak: *TAL1*, *LYL1*, *LMO1/2*, *HOX*, *TLX1*.

Ważnymi z punktu widzenia patogenezy T-ALL są elementy uczestniczące w kaskadzie przekazywania z *TCR* [36, 43]. Należą do nich kinazy tyrozyno-

we, które często ulegają aktywacji przez fuzję genów lub mutacje. Najczęściej są to mutacje kinazy *RAS* i fuzje *ABL1*, których aktywacja skutkuje wejściem komórek na szlak przetrwania i proliferacji.

Najbardziej opornym na konwencjonalną chemioterapię i niekorzystnym rokowniczo podtypem jest T-ALL z wczesnych komórek prekursorowych limfocytów T (ETP, *early T-cell precursor*) [44]. Są to komórki o niedojrzałym fenotypie CD8<sup>-</sup>, CD1a<sup>-</sup>, CD5 słabo dodatni, migrujące ze szpiku do grasicy. Swoisty profil ekspresji genów tego podtypu białaczki, określane jako LYL1<sup>+</sup>, determinuje jej agresywny charakter [44]. W najczęstszym podtypie T-ALL *common thymocyte* (CD1a<sup>+</sup>) wyróżnia się dwie grupy prognostyczne, określone na podstawie profilu ekspresji — *TLX1/HOX11* jako wynik translokacji t(10;14)(q24;q11) o dobrym rokowaniu oraz *TLX3/HOX11L2* jako wynik translokacji t(5;14)(q35;q32), której obecność zwiększa ryzyko wznowy u około 25% dzieci z T-ALL [45–47]. Wnikliwie scharakteryzowaną rearanżacją, obecną głównie w T-ALL z dojrzałej subpopulacji komórek, jest submikroskopowa delecja krótkiego ramienia chromosomu 1, powodująca nadekspresję genu *TAL1* oraz powstanie genu fuzyjnego *SIL-TAL1* obecnego u 30% dzieci z T-ALL [45]. Białaczki wykazujące tę aberrację dobrze odpowiadają na leczenie [20, 47].

### Prognostyczne i terapeutyczne wykorzystanie wiedzy na temat genów zaangażowanych w leukemogenezę

Heterogeny charakter ALL tłumaczy różne wyniki leczenia uzyskiwane u pacjentów ze zbliżonym rozpoznaniem, stadium rozwoju i w przypadku zastosowania podobnego protokołu leczenia. Dlatego wykonywanie analiz cytogenetycznych i molekularnych u tych pacjentów stało się niezwykle użytecznym narzędziem, szeroko stosowanym w praktyce klinicznej [48]. Wyodrębnienie podkategorii genetycznych opartych na profilu cytogenetycznym i białkowym w ramach dziecięcej ALL ma ogromne znaczenie dla decyzji dotyczących wdrożenia odpowiedniego leczenia. Obecnie podstawą oceny ryzyka w ALL są charakterystyka kliniczna, wyniki badań laboratoryjnych oraz specyfikacja blastów białczkowych [18]. Analiza uznanych czynników prognostycznych, takich jak: wiek, liczba leukocytów w chwili diagnozy, wczesna odpowiedź na 7-dniową kortykosteroidoterapię, uzyskanie remisji hematologicznej i klinicznej, poziom minimalnej choroby resztkowej (MRD, *minimal residual disease*), występowanie rearanżacji *BCR-ABL* i/lub *MLL-AF4*, tworzy podstawę przyporządkowania

chorych do tak zwanych grup ryzyka: standardowego, pośredniego i wysokiego [2]. W myśl tego przyporządkowania chorzy są poddawani odmiennemu rodzajowi leczenia w pełni zoptymalizowanego względem potrzeb poszczególnych grup ryzyka, do których zostali zakwalifikowani zgodnie z wypracowanym i zatwierdzonym protokołem terapeutycznym. Pacjentów z grupy wysokiego ryzyka, ze względu na wysokie ryzyko wznowy choroby, poddaje się bardziej intensywnej, wielolekowej chemioterapii, często wzmocnionej allo-HSCT, natomiast w grupach ryzyka standardowego i pośredniego leczenie łądzi się, eliminując nadmierną toksyczność na rzecz niezmięnionej skuteczności i efektywności leczenia. Wyniki leczenia w onkologii dziecięcej mierzy się co najmniej 5-letnim okresem, którego odsetek w ALL wieku dziecięcego kształtuje się obecnie na stosunkowo wysokim poziomie ponad 80% [1, 2, 10].

Z jednej strony, należy pamiętać, że najczęstszą przyczyną niepowodzeń leczenia ALL pozostają nawroty choroby, co w każdym przypadku jest wyrazem oporności na stosowane metody terapeutyczne. Szczególny niepokój budzą wznowy u chorych pierwotnie zakwalifikowanych do grupy o korzystnym rokowaniu. Problemem staje się także zjawisko lekooporności, które może być zarówno pierwotną (wrodzoną), jak i wtórną (nabytą), zewnętrzną lub wewnętrzną, czynną lub bierną, selektywną lub wielolekową cechą blastów [18]. Badanie ekspresji genów pozwala stworzyć genetyczne podklasy ostrych białaczek z wyróżnieniem genotypów prognostycznie korzystnych i niekorzystnych, identyfikować pacjentów obciążonych zwiększonym ryzykiem wtórnych nowotworów oraz przewidywać niepowodzenia terapii u danego pacjenta poprzez zidentyfikowanie genów związanych ze zjawiskiem lekooporności [49, 50]. Przykładem zastosowania metody profilowania ekspresji w rutynowej diagnostyce jest uznanie przez *Children's Oncology Group* obecności potrójnej trisomii 4, 10, 17 za korzystny rokowniczo czynnik stratyfikacyjny w obrębie grupy hiperdiploidii powyżej 50 [51].

Z drugiej strony wiadomo, że dalsza poprawa wyników leczenia w postaci coraz wyższych wskaźników EFS staje się niemożliwa przy zastosowaniu konwencjonalnych rozwiązań terapeutycznych, niewymierzonych w cele molekularne oraz opartych na dotychczasowych kryteriach stratyfikacyjnych [5, 10]. Istotnym aspektem ograniczającym dalszą intensyfikację chemioterapii jest jej toksyczność, która naraża chorych na różnorodne niepożądane działania, zarówno o znaczeniu krótko-, jak i długofalowym [32]. Reasumując, dotychczasowa stratyfikacja



nie spełnia powyższych oczekiwań. Dalszy postęp w leczeniu dziecięcej ALL może się dokonać poprzez ulepszenie procesu stratyfikacji pacjentów do grup ryzyka z wykorzystaniem nowych markerów genetycznych oraz poprzez wprowadzenie do schematów terapeutycznych leków ingerujących w molekularne procesy leukemogenezy [18].

Znane zaburzenia genetyczne w ALL, takie jak: *BCR-ABL1*, *MLL-AF4*, *iAMP21*, stały się powszechnie zaaprobowanymi, niekorzystnymi czynnikami prognostycznymi, podczas gdy w odniesieniu do innych prowadzi się intensywne badania, aby wykryć i potwierdzić obecność tego rodzaju markerów [32, 35]. Mogą one wskazywać na cechy korzystne rokowniczo, jak na przykład trisomie chromosomów 4, 10, 14 czy translokacja t(1;19), skutkująca fuzją *ETV6-RUNX1* [32, 35]. Nierozstrzygniętą pozostaje sytuacja, gdy odkrycie powtarzającej się nieprawidłowości chromosomowej nie niesie ze sobą pożądanego wniosku, tak jak w przypadku większości rearanżacji w *loci TCR*, których znaczenia klinicznego jeszcze nie sprecyzowano.

Mimo tak głębokiej wiedzy na temat czynników dobrego i złego rokowania są one ciągle niewystarczającym kryterium stratyfikacji chorych. Wynika z tego potrzeba dalszych badań i poszukiwań na temat leukemogenezy. Horyzont analiz genetycznych poszerzył się dzięki zastosowaniu nowych technologii, czego przykładem jest profilowanie genomowe przy użyciu mikromacierzy [52], dzięki której można rozpatrywać jednocześnie dużą liczbę genów i próbek, co pozwala zbadać sekwencję genomu w stosunkowo krótkim czasie. Odkrycia nowych nieprawidłowości wymagają precyzyjnego określenia ich roli w przebiegu hematopoezy, a ich rola w patogenezie białaczki niekoniecznie musi być równie istotna dla rokowania. Z tego faktu wynika konieczność prowadzenia badań o charakterze przekrojowym, z zastosowaniem narzędzi bioinformatycznych, oraz walidacji osiągniętego rozpoznania, aby ich wdrożenie w praktyce klinicznej było miarodajne i bezpieczne dla zdrowia pacjentów [18].

Badania genomu zmieniły pojęcie i obraz skutecznej interwencji medycznej, pozwalając na projektowanie celów molekularnych dla ewentualnych terapeutów. Zmierzają one w kierunku personalizacji leczenia oraz terapii celowanej, których fundament stanowi indywidualny zapis DNA każdego pacjenta ze wszystkimi tego konsekwencjami i uwzględnieniem charakterystyki biologicznych odchyleń [53, 54]. W tej dziedzinie coraz większą popularność zyskują farmakogenomika i nanotechnologia, których założeniem jest dostosowanie terapii do „molekularnego portretu” komórki nowo-

tworowej każdego pacjenta. Budzi to nadzieję na indywidualizację intensywności i strategii leczenia; stworzenia tak zwanego „profilu farmakogenetycznego” pacjenta [21]. Do zbioru substancji o najbardziej pożądanym cechach należą czynniki blokujące nadaktywne ścieżki sygnałowe, proliferację oraz przywracające zdolność do różnicowania i apoptozy blastów [1, 9]. Szczególnie duże nadzieje wiąże się z terapią ukierunkowaną na szlaki przekazywania komórkowego, w których przebieg są zaangażowane kinazy białkowe [21, 55]. Sztandarowym przykładem w ALL *BCR-ABL1*-pozytywnej jest inhibitor fuzyjnej kinazy tyrozynowej — imatynib, który stał się wzorem dla tworzenia cząsteczek o podobnym działaniu.

Równie obiecującym obszarem poszukiwań pozostaje molekularna terapia celowana w T-ALL. Enzymem poddającym się opcjonalnej inhibicji jest  $\gamma$ -sekretaza uczestnicząca w szlaku NOTCH1. Podobnie szlak PTEN-PI3K-AKT powinien stać się kolejnym przedmiotem badań nad możliwościami molekularnej interwencji w leukemogenezę T-ALL. W aspekcie celowanej terapii molekularnej bardzo interesujące wydaje się zastosowanie inhibitorów kinaz JAK w BCP-ALL wysokiego ryzyka z mutacjami tych enzymów lub wykorzystanie innego punktu uchwytu na szlaku JAK-STAT w celu zablokowania transdukcji sygnału do proliferacji komórek B-ALL z rearanżacjami *CRLF2* bez mutacji w genach białek z rodziny Janus [32].

Alternatywą jest zastosowanie przeciwciał monoklonalnych, wykazujących specyficzność wobec powierzchniowych antygenów komórkowych, które dodatkowo mogą być skoniugowane z immunotoksynami, chemioterapeutykami lub cząstkami radioaktywnymi. Wadą tej metody pozostaje brak selektywności wobec komórek nowotworowych, ponieważ antygeny są zlokalizowane także na zdrowych komórkach, co — niestety — nie przynosi w pełni zadawalającego efektu. Nowych możliwości terapeutycznych upatruje się w technikach immunomodulacji za pomocą szczepionek oraz potranskrypcyjnej regulacji ekspresji onkogennych białek fuzyjnych i czynników transkrypcyjnych. Ze względu na nieograniczone współdziałanie wielu zaburzeń prawdopodobnym i racjonalnym rozwiązaniem staje się jednoczesne zastosowanie kilku czynników uderzających w więcej niż jeden cel na poziomie molekularnym lub w skojarzeniu z konwencjonalnymi metodami terapeutycznymi. Efektem tego typu działań ma być ograniczenie ogólnych zagrożeń związanych z radykalnym i toksycznym leczeniem chemicznym oraz negatywnym oddziaływaniem na zdrowe komórki i tkanki, a więc precyzyj-



ne zwalczanie choroby, źródła patologii oraz właściwy dobór pacjentów, którzy odniosą korzyść z określonego schematu postępowania.

### Podsumowanie

Coraz lepsze zrozumienie molekularnej patogeny ostrych białaczek to jeden z najistotniejszych kierunków rozwoju wiedzy we współczesnej hematologii. Badania profili genetycznych w poszczególnych etapach kancerogenezy mogą doprowadzić do lepszego zrozumienia samego procesu chorobowego, a także stworzenia nowoczesnej klasyfikacji oraz skuteczniejszej terapii. Problemem jest właściwa całościowa interpretacja pozyskanych danych, analiza wzajemnych relacji poszczególnych zmian oraz ich współdziałania w złożonych procesach. Konieczne wydaje się przeniesienie tej ogromnej liczby analiz technicznych i statystycznych do rutynowych badań klinicznych i wcielenia w praktykę kliniczną. Spersonalizowane podejście do pacjenta poprawi wyniki leczenia, zmniejszy ryzyko wznowy oraz wystąpienia niepożądanych objawów u dzieci z ALL.

### Piśmiennictwo

- Greaves M. Childhood leukaemia. *Br. Med. J.* 2002; 324: 283–287.
- Pui C.H., Carroll W.L., Meshinchi S., Arceci R.J. Biology, risk stratification and therapy of pediatric acute leukemias: an update. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: 551–565.
- Mullighan C., Goorha S., Radtke I. i wsp. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukemia. *Nature* 2007; 446: 758–764.
- Li Z., Liu D., Liang C. New insight into the molecular mechanism of MLL-associated leukemia. *Leukemia* 2005; 19: 183–190.
- Mullighan C.G. Genomic analysis of acute leukemia. *Inter. J. Lab. Hematol.* 2009; 31: 384–397.
- Mullighan C.G., Downing J.R. Genome-wide profiling of genetic alterations in acute lymphoblastic leukemia: recent insights and future directions. *Leukemia* 2009; 23: 1209–1218.
- Collins-Underwood J.R., Mullighan C.G. Genomic profiling of high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2010; 24: 1676–1685.
- Chen J., Odenike O., Rowley J.D. Leukaemogenesis: more than mutant genes. *Nat. Rev. Cancer* 2010; 10: 23–36.
- Pui C.H., Robison L.L., Look A.T. Acute lymphoblastic leukemia. *Lancet* 2008; 371: 1030–1043.
- Szczepeński T., Harrison C.J., Van Dongen J.J. Genetic aberrations in paediatric acute leukemias and implications for management of patients. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 880–889.
- Harrison C.J. Cytogenetics of paediatric and adolescent acute lymphoblastic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2008; 144: 147–156.
- Bennet J.M., Catovsky D., Daniel M.T. i wsp. Proposals for the classification of acute leukaemias. *Br. J. Haematol.* 1976; 33: 451–458.
- Vardiman J.V., Thiele J., Arber A.A. i wsp. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009; 114: 937–951.
- Szczepeński T., Kraszewska M., Derwich K., Dawidowska M. Biologia molekularna ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci. W: Witt M., Szczepeński T., Dawidowska M. (red.). *Hematologia molekularna*. Ośrodek Wydawnictw Naukowych, Poznań 2009: 17.
- Kohlmann A., Schoch C., Schnittger S. i wsp. Pediatric acute lymphoblastic leukemia (ALL) gene expression signatures classify an independent cohort of adult ALL patients. *Leukemia* 2004; 18: 63–71.
- Ross M.E., Zhou X., Song G. i wsp. Classification of pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Blood* 2003; 102: 2951–2959.
- Yeoh E.J., Ross M.E., Shurtleff S.A. i wsp. Classification, subtype discovery, and prediction of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Cancer Cell* 2003; 1: 133–143.
- Szczepepanek J., Styczyński J., Haus O., Tretyn A., Wysocki M. Profile ekspresji genów w ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci i dorosłych. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2007; 61: 519–533.
- Harvey R.C., Mullighan C.G., Wang X. i wsp. Identification of novel cluster groups in pediatric high-risk B-precursor acute lymphoblastic leukemia with gene expression profiling: correlation with genome-wide DNA copy number alterations, clinical characteristics, and outcome. *Blood* 2010; 116: 4874–4884.
- Pastorcak A., Młynarski W., Szczepeński T. Prognostic and therapeutic implications of genetic aberrations in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Hematologia* 2011; 2: 43–50.
- Armstrong S.A., Look A.T. Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 6306–6315.
- Den Boer M.L., Van Slegtenhorst M., De Menezes R.X. i wsp. A subtype of childhood acute lymphoblastic leukaemia with poor treatment outcome: a genome-wide classification study. *Lancet Oncol.* 2009; 10: 125–134.
- Balduzzi A., Valsecchi M., Uderzo C. i wsp. Chemotherapy versus allogeneic transplantation for very-high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: comparison by genetic randomization in an international prospective study. *Lancet* 2005; 366: 635–642.
- Harrison C.J., Moorman A., Broadfield Z. i wsp. Three distinct subgroups of hypodiploidy in acute lymphoblastic leukemia. *Br. J. Haematol.* 2004; 125: 552–559.
- Harrison C.J., Haas O., Harbort J. i wsp. Detection of prognostically relevant genetic abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: recommendations from the Biology and Diagnosis Committee of the International Berlin-Frankfurt-Munster study group. *Br. J. Haematol.* 2010; 151: 132–142.
- Heerema N.A., Carroll A.J., Borowitz M.J. i wsp. Amplification of AML1 does not impact early outcome of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) treated with risk-directed chemotherapy: a report from the Children's Oncology Group (COG). *Blood* 2009; 114: abstrakt 1019.
- Jeha S., Pei D., Raimondi S. i wsp. Increased risk of CNS relapse in pre-B cell leukemia with t(1;19)/TCF3-PBX1. *Leukemia* 2009; 23: 1406–1409.
- Lundin C., Heldrup J., Ahlgren T., Olofsson T., Johansson B. B-cell precursor t(8;14)(q11;q32)-positive acute lymphoblastic

- leukemia in children is strongly associated with Down syndrome or with concomitant Philadelphia chromosome. *Eur. J. Haematol.* 2008; 82: 46–53.
29. Mullighan C.G., Miller C.B., Radtke I. i wsp. BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros. *Nature* 2008; 453: 110–114.
  30. Harvey R.C., Mullighan C.G., Ming Chen I. i wsp. Rearrangement of *CRLF2* is associated with mutation of *JAK* kinases, alteration of *IKZF1*, Hispanic/Latino ethnicity, and a poor outcome in pediatric B-progenitor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2012; 115: 5312–5321.
  31. Mullighan C.G., Zhang J., Harvey R.C. i wsp. JAK mutations in high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2009; 106: 9414–9418.
  32. Roberts K.G., Mullighan C.G. How new advances in genetic analysis are influencing the understanding and treatment of childhood acute leukemia. *Curr. Opin. Pediatr.* 2011; 23: 34–40.
  33. Georgopoulos K., Bigby M., Wang J.H. i wsp. The Ikaros gene is required for the development of all lymphoid lineages. *Cell* 1994; 79: 43–156.
  34. Kuiper R., Waanders E., Van der Velden V. i wsp. IKZF1 deletions predict relapse in uniformly treated pediatric precursor B-ALL. *Leukemia* 2010; 24: 1258–1264.
  35. Mullighan C.G. New strategies in acute lymphoblastic leukemia: translating advances in genomics into clinical practice. *Clin. Cancer Res.* 2011; 17: 396–400.
  36. Graux C., Cools J., Michaux L. i wsp. Cytogenetics and molecular genetics of T-cell acute lymphoblastic leukemia: from thymocyte to lymphoblast. *Leukemia* 2006; 20: 1496–1510.
  37. Teitell M.A., Pandolfi P.P. Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. *Ann. Rev. Pathol.* 2009; 4: 175–198.
  38. Cauwelier B., Dastugue N., Cools J. i wsp. Molecular cytogenetic study of 126 inselected T-ALL cases reveals high incidence of TCRB *locus* rearrangements and putative new T-cell oncogenes. *Leukemia* 2006; 20: 1238–1244.
  39. Weng A., Ferrando A., Lee W. i wsp. Activating mutations of NOTCH1 in human T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Science* 2004; 306: 269–271.
  40. Karrman K., Forestier E., Heyman M. i wsp. Clinical and cytogenetic features of a population-based consecutive series of 285 pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemias: rare T-cell receptor gene rearrangements are associated with poor outcome. *Genes Chrom. Cancer* 2009; 48: 795–805.
  41. Dreyling M., Martinez-Climent J., Zheng M. i wsp. The t(10;11)(p13;q14) in the u937 cell line results in the fusion of the AF10 gene and CALM, encoding a new member of the AP-3 clathrin assembly protein family. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996; 93: 4804–4809.
  42. Graux C., Cools J., Melotte C. i wsp. Fusion of NUP214 to ABL1 on amplified episomes in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat. Genet.* 2004; 36: 1084–1089.
  43. Van Vlierberghe P., Pieters R., Beverloo H.B., Meijerink J.P. Molecular-genetic insights in paediatric T-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2008; 143: 153–168.
  44. Coustan-Smith E., Mullighan C., Onciu M. i wsp. Early T-cell precursor leukemia: a subtype of a very high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Lancet Oncol.* 2009; 10: 147–156.
  45. Cave H., Suci S., Preuhomme C. i wsp. Clinical significance of HOX11L2 expression linked to t(5;14)(q35;q32), of HOX11 expression, and of SIL-TAL fusion in childhood T-cell malignancies: results of EORTC studies 58881 and 58951. *Blood* 2004; 103: 442–450.
  46. Riz I., Hawley R. G1/S transcriptional networks modulated by the HOX11/TLX1 oncogene of T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Oncogene* 2005; 24: 5561–5575.
  47. Van Grotel M., Meijerink J.P., Van Wering E.R. i wsp. Prognostic significance of molecular-cytogenetic abnormalities in pediatric T-ALL is not explained by immunophenotyping differences. *Leukemia* 2008; 22: 124–131.
  48. Lee-Sherick A.B., Linger R.M.A., Gore L., Keating A.K., Graham D.K. Targeting paediatric acute lymphoblastic leukaemia: novel therapies currently in development. *Br. J. Haematol.* 2010; 151: 295–311.
  49. Lugthart S., Cheek M.H., den Boer M.L. i wsp. Identifications of genes associated with chemotherapy cross-resistance and treatment response in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell.* 2005; 7: 375–386.
  50. Styczyński J., Wysocki M. Is the *in vitro* drug resistance profile the strongest prognostic factor in childhood acute lymphoblastic leukemia? *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 963–964.
  51. Mullighan C.G., Flotho C., Downing J.R. Genomic assessment of pediatric acute leukemia. *Cancer J.* 2005; 11: 268–282.
  52. Margalit O., Somech R., Amariglio N., Rechavi G. Microarray-based gene expression profiling of hematologic malignancies: basic concepts and clinical applications. *Blood Rev.* 2005; 19: 223–234.
  53. Carroll W.L., Bhojwani D., Min D.J., Moskowitz N., Raetz E.A. Childhood acute lymphoblastic leukemia in the age of genomics. *Pediatr. Blood Cancer* 2006; 46: 570–578.
  54. Willman C.L. Discovery of novel molecular classification schemes and genes predictive of outcome in leukemia. *Hematol. J.* 2004; 5: S138–S143.
  55. Winter S.S. Pediatric acute leukemia therapies informed by molecular analysis of high-risk disease. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2011; 2011: 366–373.